

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2004-292314

(43)Date of publication of application : 21.10.2004

(51)Int.Cl.

A61K 31/335

A61P 17/00

A61P 17/02

A61P 17/06

A61P 29/00

A61P 37/08

// C07D313/00

(21)Application number : 2000-379994

(71)Applicant : CHUGAI PHARMACEUT CO LTD

(22)Date of filing : 14.12.2000

(72)Inventor : TSUCHIYA MASAYUKI

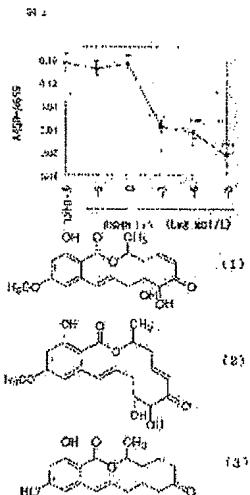
OTOMO TOSHIHIKO

(54) PROLIFERATION INHIBITOR OF KERATINOCYTE

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a proliferation inhibitor of keratinocytes which are dermal epithelial cells and to provide a therapeutic or a prophylactic agent for dermatoses accompanying the proliferation of the keratinocytes.

SOLUTION: The proliferation inhibitor of the keratinocytes comprises zearalenones which are compounds represented by formulae (1) to (3) as an active ingredient. The proliferation inhibitor of the keratinocytes is effective as a therapeutic agent or prophylactic agent for dermatoses such as psoriasis, immunological dermatosis, allergic dermatosis, inflammatory dermatosis or chronic wounds.



(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2004-292314

(P2004-292314A)

(43) 公開日 平成16年10月21日(2004.10.21)

(51) Int.Cl.⁷

A61K 31/335

A61P 17/00

A61P 17/02

A61P 17/06

A61P 29/00

F 1

A61K 31/335

A61P 17/00

A61P 17/02

A61P 17/06

A61P 29/00

テーマコード(参考)

4C062

4C086

審査請求 未請求 請求項の数 4 O L (全 8 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号

特願2000-379994(P2000-379994)

(22) 出願日

平成12年12月14日(2000.12.14)

(71) 出願人 000003311

中外製薬株式会社

東京都北区浮間5丁目5番1号

(72) 発明者 土屋 政幸

静岡県御殿場市駒門1丁目135番地 中
外製薬株式会社内

(72) 発明者 大友 俊彦

静岡県御殿場市駒門1丁目135番地 中
外製薬株式会社内

F ターム(参考) 4C062 JJ64

4C086 AA01 AA02 BA17 MA01 MA04

MA63 NA14 ZA89 ZB07 ZB11

ZB13

(54) 【発明の名称】ケラチノサイト増殖抑制剤

(57) 【要約】 (修正有)

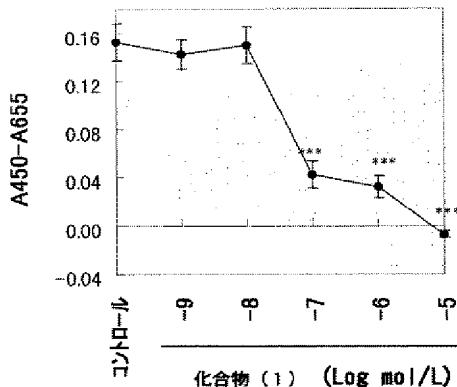
図 1

【課題】ケラチノサイト増殖抑制剤の提供。

【解決手段】下記式化合物(1)～(3)のゼアラレノン類を有効成分とするケラチノサイト増殖抑制剤。

【効果】上記ケラチノサイト増殖抑制剤は、乾癬、免疫性皮膚疾患、アレルギー性皮膚疾患、炎症性皮膚疾患、又は慢性創傷等皮膚疾患等の治療剤又は予防剤として有効である。

【選択図】 図 1



【特許請求の範囲】

【請求項1】

ゼアラレノン類を有効成分とするケラチノサイト増殖抑制剤。

【請求項2】

ゼアラレノン類を有効成分とする、ケラチノサイトの異常増殖を伴う皮膚疾患の治療剤または予防剤。

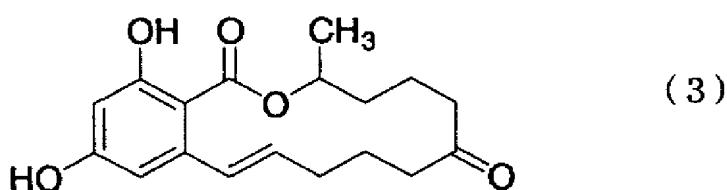
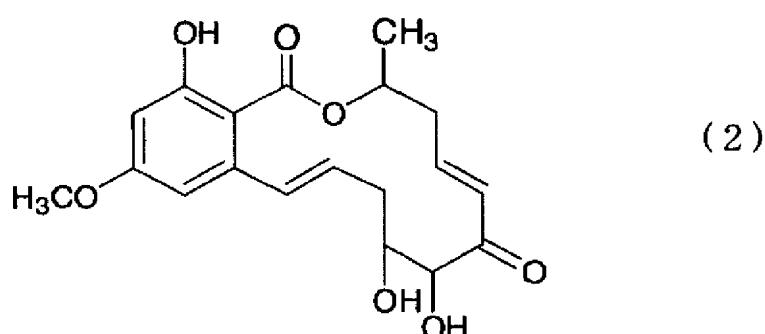
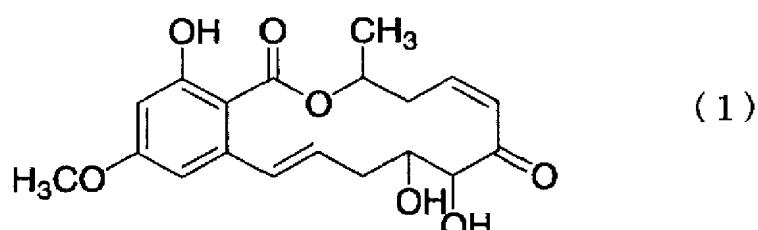
【請求項3】

皮膚疾患が、乾癬、免疫性皮膚疾患、アレルギー性皮膚疾患、炎症性皮膚疾患、または慢性創傷である請求項2記載の治療剤または予防剤。

【請求項4】

ゼアラレノン類が、下記の化合物(1)～(3)

【化1】



から選択される、請求項1～3に記載の抑制剤、治療剤または予防剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、ケラチノサイト増殖抑制剤に関する。

【0002】

【従来の技術】

通常の生理状態では皮膚上皮細胞であるケラチノサイトの増殖は厳密に制御されている。しかしながら、乾癬、免疫性・アレルギー性皮膚疾患、慢性創傷等の多くの皮膚疾患においては、ケラチノサイトの細胞増殖制御機構が破綻をきたし、皮膚上皮細胞の病的な異常増殖による皮膚の肥厚が認められる。上皮細胞増殖因子(Epidermal growth factor)等の種々の増殖因子やインターロイキン1、4、6、8等のサイトカインの過剰産生が認められ、それに反応したケラチノサイトの細胞増殖の亢進が認めら

れるが（Gen. Pharmac., (1998) 5, 619-622）、上述の疾患における詳細なケラチノサイト増殖メカニズムは不明である。従って、ケラチノサイトの病的な細胞増殖を抑制する物質が見出されれば、ケラチノサイトの異常増殖を特徴とする種々の皮膚疾患の治療薬としての利用が期待できる。さらに、線維芽細胞等の間質細胞の増殖には影響が無い物質であれば副作用の軽減の面でも有用性が期待される。

【0003】

これまで種々の乾癬治療薬が報告されているが、その効果は満足できるものではなく、より有効な乾癬治療薬が望まれている。

ところで、ゼアラレノン類は、これまでに種々の化合物が報告されており、また、種々の作用、例えば、サイトカイン、特にIL-1の産生抑制（特開平8-40893号公報、欧州第606044A号公報など）、チロシンキナーゼ阻害（WO96/13259号公報）、MEK1キナーゼ阻害に基づくT細胞の活性化及び活性化に伴う増殖阻害（Biochemistry, 37; 9579-9585, 1998）、JNK/p38活性化の阻害（Biochem. Biophys. Res. Commun., 257; 19-23, 1999）、MEK阻害（J. Antibiotics, 52; 1086-1094, 1999）、LPS刺激後のサイトカイン（IL-1、IL-6、TNF- α ）産生阻害（Int. J. Immunopharmacol., 21; 799-814, 1999）、LPS、IFN- γ 刺激後のサイトカイン（IL-1 β 、TNF- α ）産生抑制（Cytokine, 8; 751-761, 1996）など、についても報告されている。

【0004】

しかし、これまで、ゼアラレノン類がケラチノサイトの増殖を抑制する作用を有することは知られていない。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】

本発明の目的は、ケラチノサイト増殖抑制剤を提供することである。本発明は、また、ケラチノサイトの増殖を伴う皮膚疾患の治療または予防剤を提供することも目的とする。

【0006】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、上記課題を解決するため鋭意研究を重ねた結果、ある種のゼアラレノン類がケラチノサイト特異的な細胞増殖抑制作用を有することを見出し、この知見に基づき本発明を完成した。

【0007】

すなわち、本発明は、ゼアラレノン類を有効成分とするケラチノサイト増殖抑制剤を提供する。また、本発明は、ゼアラレノン類を有効成分とする、ケラチノサイトの異常増殖を伴う皮膚疾患の治療剤または予防剤を提供する。

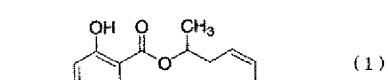
【0008】

【発明の実施の形態】

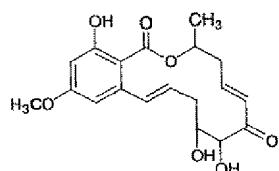
本発明において、ゼアラレノン類には、例えば以下に示されるような、ゼアラレノンおよびその誘導体が含まれる：

【0009】

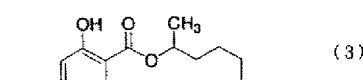
【化2】



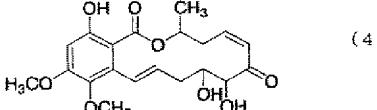
(1)



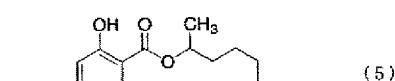
(2)



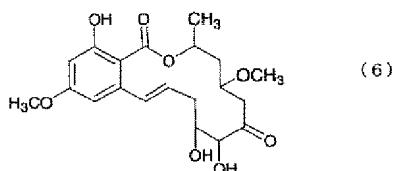
(3)



(4)



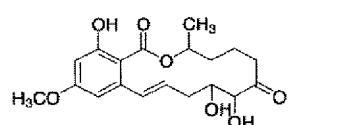
(5)



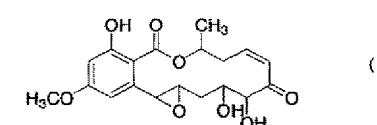
(6)

【0010】

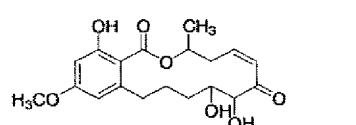
【化3】



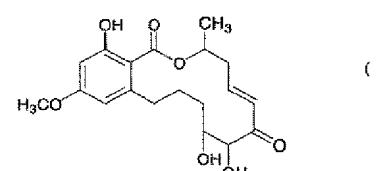
(7)



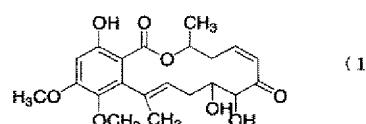
(8)



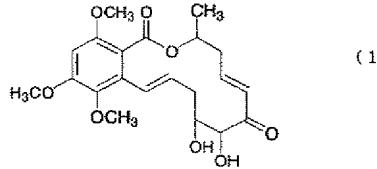
(9)



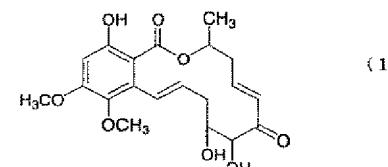
(10)



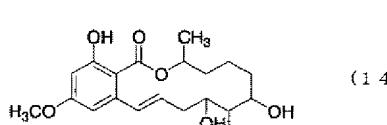
(11)



(12)



(13)



(14)

【0011】

化合物(1)～(14)は、自体公知の化合物であり、文献(例えば、Int. J. Immunopharmacol., 21: 799-814, 1999; J. Org. Chem., 43: 2339-2343, 1978; Chem. Pharm. Bull., 41: 373-375, 1993; J. Antibiotics, 52: 1077-1085, 1999; Biochem. Biophys. Res. Commun., 257: 19-23, 1999; Cytokine, 8: 751-761, 1996; Pharmacol. Commun., 7: 301-308, 1996; 日本特許公開平8-40893号公報; 欧州特許公開第606044A号公報; Biochemistry, 37: 9579-9585,

1998など)に記載の方法により調製することができる。

【0012】

ゼアラレノン類としては、化合物(1)～(3)が好ましく、化合物(1)が特に好ましい。

【0013】

ケラチノサイトの異常増殖を伴う皮膚疾患には、ケラチノサイトの細胞増殖制御機構が破綻をきたすことにより、皮膚上皮細胞の病的な異常増殖により皮膚の肥厚が認められる各種の疾患などが含まれる。このような皮膚疾患の非限定的具体例としては、乾癬、免疫性皮膚疾患、アレルギー性皮膚疾患、炎症性皮膚疾患、慢性創傷などが挙げられ、これら皮膚疾患のいずれに対しても本発明のケラチノサイト増殖抑制剤が治療剤もしくは予防剤として有効であることが期待される。

【0014】

本発明のケラチノサイト増殖抑制剤を含む医薬の投与形態は特に限定されず、経口投与でも非経口投与でもよく、また、全身投与でも局所投与でもよい。本発明の医薬は、一般的には、非経口的に投与することができ、スプレー剤、クリーム、ローション、軟膏などとして経皮的に投与することや、注射剤として静脈内、筋肉内または皮下に投与することができる。

【0015】

投与量は、患者の体型、年齢、体調、疾患の種類や度合い、発症後の経過時間等により、適宜選択することができる。

【0016】

以下、実施例により本発明をさらに詳細に説明するが、本発明はこれらの実施例によりなんら限定されるものではない。

【0017】

【実施例】

(実施例1) 正常ヒトケラチノサイトの細胞増殖への本発明化合物の効果

新生児由来の正常ヒトケラチノサイト(三光純薬社製)を1ウエル当たり 2×10^3 個となるように96穴プレートにKGM-2培地を用いて播種し、細胞が接着した後に化合物(1)を最終濃度 $10^{-9} \sim 10^{-5}$ mol/Lになるように添加した。3日間培養後、生細胞数測定試薬SF(WST-8、ナカライテスク社製)を培地の1/10量添加し、37°Cで1時間培養後、0.1 mol/LのHClを培地の1/10量添加して反応を停止した。その後、直ちにマイクロプレートリーダーを用いて450 nm(参照波長:655 nm)の吸光度を測定した。細胞を含有しない培地に同様の処置を施したものとバックグラウンドとし、測定値からバックグラウンドを引いた値を算出した。

【0018】

結果を図1に示す。図1において、各プロットは、mean±SD (n=4)を示す。
***は、Dunnettの多重比較(コントロール群との比較)においてp<0.001であることを示す。

【0019】

化合物(1)は $10^{-7} \sim 10^{-5}$ mol/Lの濃度でヒトケラチノサイトの増殖を有意に抑制し(Dunnettの多重比較、p<0.001)、そのIC50値は、 4.8×10^{-8} mol/Lであった。

【0020】

続いて、正常ヒトケラチノサイトの増殖抑制効果を [3 H]チミジンの取り込みにより評価した。すなわち、新生児由来正常ヒトケラチノサイト1ウエル当たり 2×10^3 個となるように96穴プレートにKGM-2培地を用いて播種し、細胞が接着した後に化合物(1)を最終濃度 $10^{-9} \sim 10^{-5}$ mol/Lになるように添加した。3日間培養後、 [3 H]チミジン(アマシャム・ファルマシア社製)を添加して更に一晩培養し、 [3 H]チミジンの細胞への取り込みを液体シンチレーションカウンターで測定した。

【0021】

結果を図2に示す。図2において、各プロットは、mean±SD（n=5）を示す。***は、Dunnettの多重比較（0 mol/L濃度の化合物（1）の群との比較）においてp<0.001であることを示す。

【0022】

その結果、化合物（1）は $10^{-7} \sim 10^{-5}$ mol/Lの濃度でヒトケラチノサイトの [3 H] チミジンの取り込みを有意に抑制し（Dunnettの多重比較、p<0.001）、そのIC50値は、 3.2×10^{-8} mol/Lであった。同様に化合物（2）および化合物（3）について実験したところ、IC50値は、それぞれ、 2.9×10^{-7} mol/L、および 2.6×10^{-6} mol/Lであった。

（実施例2）正常ヒトケラチノサイトにおける本発明化合物の細胞毒性の検討化合物（1）の細胞毒性は細胞外に漏出したLDH量を測定することで評価した。すなわち、正常ヒトケラチノサイトを1ウエル当たり 2×10^3 個となるように96穴プレートにKGM-2培地を用いて播種し、細胞が接着した後に化合物（1）を最終濃度 $10^{-9} \sim 10^{-5}$ mol/Lになるように添加した。3日間培養後、培養上清 $200\mu\text{L}$ のうちの $50\mu\text{L}$ を用いて、LDH-細胞毒性テストワコー（和光純薬社製）により、培地中に漏出してくれるLDH活性を測定した。なお、ポジティブコントロールとして、コントロールに最終濃度0.1%となるようTween 20を添加し、37°Cで15分間処理したもの用いた。細胞を含有しない培地のみのLDH活性をバックグラウンドとし、測定値からバックグラウンドを引いた値を算出した。

【0023】

結果を図3に示す。図3において、各プロットは、mean±SD（各群n=5。但し、Tween 20群はn=1）を示す。***は、Dunnettの多重比較（コントロール群との比較）においてp<0.001であることを示す。

その結果、化合物（1）は、 10^{-5} mol/Lの濃度でヒトケラチノサイトに対し細胞毒性を示した（Dunnettの多重比較、p<0.001）が、ケラチノサイト細胞増殖をほぼ完全に抑制した濃度（ $10^{-7} \sim 10^{-6}$ mol/L）では、細胞毒性は認められなかった。

（実施例3）正常ヒト線維芽細胞の細胞増殖に対する本発明化合物の影響の検討

ヒト線維芽細胞株WI-38細胞(ATCC)を1ウエル当たり 2×10^3 個となる様に96穴マイクロプレート(Falcon社製)に10%ウシ胎児血清を含むDMEM培地を用いて播種した。終夜培養し細胞を接着させた後、化合物（1）を $10^{-9} \sim 10^{-6}$ mol/Lとなるように、または対照としてDMSOを終濃度1%となるように添加した。3日間培養した後、生細胞数測定試薬SF(WST-8、ナカライトスク社製)を培地の1/10量添加した。37°Cで1時間培養した後、450 nm(参照波長:620 nm)の吸光度を測定し、細胞を含有しない培地に同様の処置を施したものバックグラウンドとし、対照の吸光度を100とした相対値を算出した。統計処理は、Dunnettの多重比較により行った。

【0024】

結果を図4に示す。図4において、各プロットは、mean±SD（各群n=6。但し、コントロール群はn=4）を示す。

その結果、化合物（1）を 1×10^{-6} mol/Lとなるように添加した条件下でのみ約25%程度の吸光度の減少が認められたが、その他の条件では全くWI-38細胞の増殖に影響は認められず、ケラチノサイトの増殖抑制作用のような顕著な作用が認められなかった。従って、化合物（1）の細胞増殖抑制作用がケラチノサイト特異的であることが確認された。

【0025】

【発明の効果】

本発明によれば、ケラチノサイトの細胞増殖作用を特異的に抑制する活性を有するので、ケラチノサイトの異常増殖を特徴とする各種疾病（例えば、乾癬、炎症性・アレルギー性皮膚疾患、慢性創傷等）の治療または予防剤として有用であることが期待される。また、

繊維芽細胞等の間質細胞の増殖に実質的に影響を及ぼさないので、副作用の少ない、上記疾病の治療または予防剤として有用であることが期待される。

【図面の簡単な説明】

【図1】化合物(1)のヒトケラチノサイト増殖抑制作用を示すグラフである。

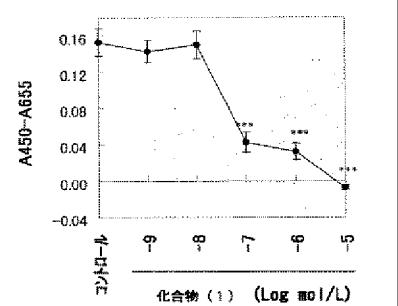
【図2】化合物(1)のヒトケラチノサイト増殖抑制作用を示すグラフである。

【図3】化合物(1)のヒトケラチノサイトに対する細胞毒性を示すグラフである。

【図4】化合物(1)のヒト線維芽細胞の細胞増殖に対する影響を示すグラフである。

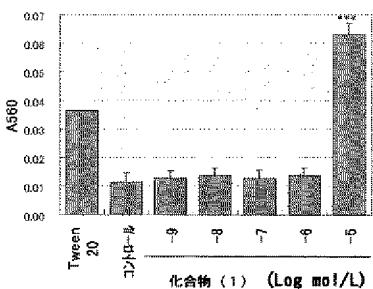
【図1】

図 1



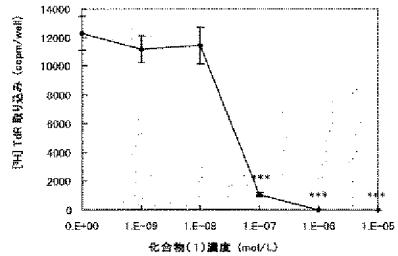
【図3】

図 3



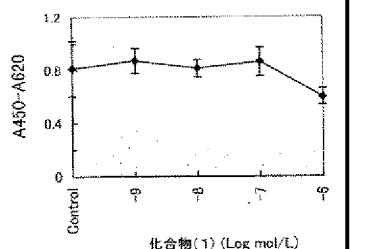
【図2】

図 2



【図4】

図 4



(51) Int.Cl.7

A 6 1 P 37/08

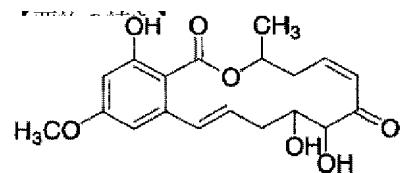
// C 0 7 D 313/00

F I

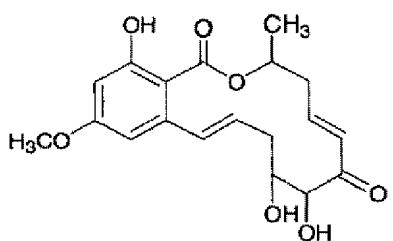
A 6 1 P 37/08

C 0 7 D 313/00

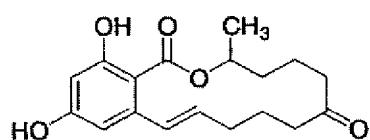
テーマコード(参考)



(1)



(2)



(3)

【効果】上記ケラチノサイト増殖抑制剤は、乾癬、免疫性皮膚疾患、アレルギー性皮膚疾患、炎症性皮膚疾患、又は慢性創傷等皮膚疾患等の治療剤又は予防剤として有効である。

【選択図】 図1